

MATIERE D'ŒUVRE-

Contrôle de l'efficacité d'une opération de pasteurisation d'un lait utilisé pour la fabrication d'un fromage

1. DOSAGE DE LA PAL

Réactifs :

- Une barrette 8 puits à sensibiliser à la SAB :
Placer dans chaque puits 200µL de SAB à 100µg/mL dans du tampon Carbonate-bicarbonate: à pH alcalin, la SAB se fixe au fond des puits. Rincer au tampon carbonate-bicarbonate, la SAB non fixée est éliminée. Saturer le plastique avec du lait UHT. Rincer l'excès de lait avec le tampon carbonate-bicarbonate.
- « Réactif R1 » (tampon de dilution) : 10 mL de tampon PBS
- « Réactif R2 » (Solution mère étalon à 600 000 mU/L) : Anticorps anti-SAB couplé à la PAL (ref. : ABIN799945 chez « anticorps en ligne »)100µL
- « Réactif R3 » (tampon de lavage) : 15mL de tampon PBS +Tween
- « Réactif R4 » (substrat pNPP) : à 1 mg/mL en tampon Tris-HCl à 1 mol/L, pH = 9,8 : 1 mL
- « Réactif R5 » (solution d'arrêt) : NaOH 1,5 M 0,5 mL
- Solution « LD » : R2 au 1/600^{ème}, 500µL (environ 1 000 mU/L)

Matériel :

Par élève:

- Une barrette 8 puits ;
- Adhésif ;
- Cadre de fixation pour barrette ;
- Tubes Eppendorf pour la dilution des étalons : 5 (un pour la pré-dilution, 4 pour la gamme)
- Papier absorbant.

Pour 2 :

- Micropipettes de précision : 50 – 1000 µL et cônes jetables adaptés ;
- Petite bassine ou autre récipient pour vider les liquides de rinçage ;

Pour la classe :

- Agitateur pour microplaque ;
- Lecteur de microplaques avec filtre 405 nm ;
- Etuve régulée 35-38°C ;

2. DENOMBREMENT DES ENTEROBACTERIES

Réactifs :

- Tubes de 9mL d'eau physiologique stérile : 6
- Tubes de 15mL de gélose VRBG en surfusion : 6
- « suspension-mère S » : laitensemencé avec *E. coli* 100 /mL en tube de 10mL : 3mL

Matériel minimum :

Par élève :

- 6 boîtes de Pétri stériles ;
- 4 pipettes graduées stériles de 1mL ; (2 pour les dilutions, 2 pour les ensemencements)

Pour 2 :

- Vortex